

El proceso angiogénico y el cáncer

✉ Omar López¹, Yack Magariño², René Delgado³

¹Centro de Estudio para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas, IFAL, UH
Ave. 23 #21425 entre 214 y 222, La Coronela, La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba

²Centro de Química Biomolecular, CQB

Calle 200, Esq. 21, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba

³Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos, CENCEC

Calle 200, Esq. 21, Atabey, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba

E-mail: omarlopez@infomed.sld.cu

REVISIÓN

RESUMEN

La angiogénesis, el crecimiento de nuevos capilares a partir de los vasos pre-existentes, se encuentra estrechamente relacionado con procesos esenciales para el organismo, que son puramente fisiológicos; por ejemplo la embriogénesis, el ciclo reproductivo y la cicatrización de heridas. También se encuentra asociado a condiciones patológicas como el desarrollo de tumores, metástasis, retinopatía diabética, hemangioma, artritis, psoriasis y arterosclerosis, entre otras enfermedades crónicas. El desarrollo de compuestos anti-angiogénicos específicos se plantea como un atractivo enfoque terapéutico para el tratamiento del cáncer y otras enfermedades dependientes de la angiogénesis. Muchos de estos agentes están siendo evaluados en ensayos clínicos y han mostrado actividad antitumoral prometedora. Esta revisión pretende dar una visión general de los principales conocimientos acumulados acerca de la angiogénesis y su papel en el cáncer, incluyendo también los componentes de las vías de transducción de señales que se han investigado de este proceso. Además esta revisión se centra en los enfoques actuales para el descubrimiento de nuevos compuestos que inhiben la angiogénesis, con énfasis en el estado de desarrollo clínico del producto anti-angiogénico.

Palabras clave: Angiogénesis, cáncer, tumor

Biotecnología Aplicada 2009;26:104-110

ABSTRACT

The angiogenic process and cancer. Angiogenesis, the growth of new capillaries from pre-existing vessels, is closely related to processes essential for the organism, which are entirely physiological, for example embryogenesis, reproductive cycle, and wound healing, and is also associated with pathological conditions such as tumor progression, metastasis, diabetic retinopathy, hemangioma, arthritis, psoriasis and atherosclerosis, among other chronic diseases. The development of specific anti-angiogenic agents arises as an attractive therapeutic approach to treat cancer and other angiogenesis-dependent diseases. Many of these agents are being evaluated in clinical trials and have shown promising antitumor activity. This review attempts to provide a comprehensive overview of key knowledge accumulated on angiogenesis and its role in cancer, including the components of signal transduction pathways that have been explored in this process. Additionally, this review focuses on the current approaches for the discovery of new compounds that inhibit angiogenesis, emphasizing on the clinical developmental status of antiangiogenic drugs.

Keywords: Angiogenesis, cancer, tumor

Introducción

El establecimiento y mantenimiento de una red vascular es un requisito indispensable para el crecimiento de tejidos sanos y neoplásicos. El sistema cardiovascular es el primer sistema de órganos que se desarrolla y comienza a funcionar durante la embriogénesis [1]. La formación de nuevos vasos sanguíneos incluye dos procesos: la vasculogénesis y la angiogénesis y es importante el conocimiento de sus diferencias conceptuales. La vasculogénesis es la diferenciación primaria *in situ* de las células endoteliales (CE) a partir de precursores mesodérmicos y su subsecuente organización en un plexo capilar primario [2]. Este es un proceso bien regulado en condiciones fisiológicas que se activa por un período de tiempo corto para luego inhibirse, por ejemplo en la embriogénesis [3]. La angiogénesis se define como la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir del lecho vascular existente. Este evento ocurre durante el desarrollo embrionario y en la vida postnatal [4].

La angiogénesis debe estar inhibida o ausente en condiciones normales de los tejidos adultos del orga-

nismo. Solo tiene lugar durante el ciclo reproductivo femenino y la cicatrización de heridas [5]. Estos procesos se asocian con la llamada angiogénesis fisiológica y se producen bajo un estricto control funcional, encaminado fundamentalmente a alcanzar un balance adecuado o equilibrio entre los reguladores positivos (estimuladores angiogénicos) y los reguladores negativos (inhibidores angiogénicos) [6].

Sin embargo, muchas enfermedades se relacionan con la angiogénesis patológica y ha sido descrita como una de las particularidades del cáncer, jugando un papel esencial en el desarrollo del tumor, la invasión y metástasis. Esto ocurre solo, ante un estímulo determinado o daño, donde se rompe el equilibrio y se origina una excesiva producción de estimuladores y/o una disminución de inhibidores angiogénicos [6]. Cuando las CE en reposo son activadas por una señal angiogénica, liberan enzimas degradantes permitiendo la migración, proliferación y finalmente la diferenciación de la célula endotelial para formar los nuevos

1. Fischer C, Schneider M, Carmeliet P. Principles and therapeutic implications of angiogenesis, vasculogenesis and arteriogenesis. *Handb Exp Pharmacol* 2006; 176(2):157-212.

2. Schmidt A, Brixius K, Bloch W. Endothelial precursor cell migration during vasculogenesis. *Circ Res* 2007;101(2):125-36.

3. Ratajska A, Czarnowska E. Vasculogenesis of the embryonic heart: contribution of nucleated red blood cell to early vascular structures. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2006;6(3):219-25.

4. Demir R, Saval Y, Hupertz B. Vasculogenesis and Angiogenesis in the early human placenta. *Acta Histochem* 2007;109(4):257-65.

5. Velásquez OC. Angiogenesis and vasculogenesis: inducing the growth of new blood vessels and wound healing by stimulation of bone marrow-derived progenitor cell mobilization and homing. *J Vasc Surg* 2007;45 Suppl A:A39-47.

vasos. De manera general casi todas las ramas de la medicina tienen que ver de una forma u otra con la angiogénesis asociada a procesos fisiopatológicos, y sin ninguna excepción, todos los sistemas de órganos se relacionan con muchas enfermedades en las cuales la angiogénesis es un componente importante [5]. La presente revisión discutirá brevemente los estudios realizados sobre la angiogénesis como proceso vinculado a las patologías oncológicas y el desarrollo y uso de inhibidores de la angiogénesis en la lucha contra el cáncer.

Antecedentes

Dos momentos importantes en el de cursar de casi dos siglos, sobre el concepto probado en la actualidad de que la angiogénesis es un proceso clave en la desarrollo de cáncer, es primeramente cuando en 1787 el cirujano británico John Hunter describe el término angiogénesis, como la formación de nuevos vasos sanguíneos, y su continuidad durante todo el siglo XIX del estudio en detalles de la anatomía vascular de los tumores. El segundo momento se produce entre las décadas de 1960 y 1970, cuando comienzan las investigaciones en el campo de la angiogénesis relacionada al crecimiento de los tumores y se hace pública en 1971, por el Dr. Judah Folkman, la imaginativa hipótesis de que el crecimiento del tumor dependía de los procesos angiogénicos que se producían en su entorno [7]. Sin embargo, no es hasta mediado de 1990, que se acentúa el papel de la angiogénesis en el cáncer [6] y llega la etapa que se caracteriza por un surgimiento masivo de productos antiangiogénicos y de su evaluación en ensayos clínicos.

En la actualidad las investigaciones se encaminan a la obtención de compuestos que modifiquen la biología del endotelio vascular con el objetivo de prevenir el crecimiento del tumor. Estas incluyen: inhibición de la proliferación endotelial, directamente por la inhibición o bloqueo de los receptores de los factores de crecimiento asociados al endotelio vascular; la regulación negativa de la expresión de los factores de crecimiento [8]; y la prevención de la migración de las CE, por la inhibición de la actividad de las metaloproteinasas de matriz (MMP).

Caracterización del proceso angiogénico

La angiogénesis es un proceso que se induce por la aparición de un estímulo, donde uno de los fundamentales es la hipoxia [9], pero puede ser inducida también por estímulos metabólicos como la hipoglucemia y la acidosis [10]. Se conoce que en respuesta a un estímulo angiogénico, tienen lugar eventos como la vasodilatación local, aumento de la permeabilidad vascular y la acumulación de fibrina extravascular [11].

El proceso de angiogénesis asociada a los tumores ocurre ordenadamente según una serie de eventos, como se señala en la Figura 1 y enumeramos a continuación:

1. Los tejidos dañados o enfermos producen proteínas llamadas factores de crecimiento, que difunden a través de los tejidos hasta los vasos sanguíneos cercanos.

2. Estos factores de crecimiento se unen a sus receptores específicos localizados en las CE de estos vasos sanguíneos.

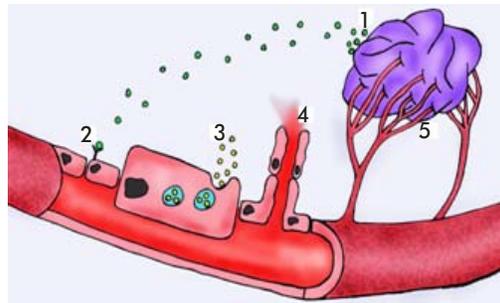


Figura 1. Cascada de eventos durante la angiogénesis asociada a los tumores. 1) El tumor secreta factores de crecimiento; 2) Estos factores de crecimiento interactúan con sus respectivos receptores en la superficie de las CE y las activan; 3) En la célula activada, la señal se transduce mediante segundos mensajeros y llega al núcleo para comenzar la expresión de enzimas (MMP); 4) Estas enzimas actúan como tijeras cortando los diferentes componentes de la membrana basal y la matriz extracelular para favorecer la proliferación y diferenciación de las CE; 5) Finalmente las CE van creciendo en forma de una estructura tubular y los vasos más cercanos se unen formando un lazo de manera que comienza la circulación de la sangre en el tumor.

3. Una vez establecida la unión con sus receptores, la CE se activa. Se comienzan a enviar señales desde la superficie celular hasta el núcleo y la maquinaria de la CE comienza a producir nuevas moléculas, incluyendo enzimas, entre las que se encuentran las MMP.

4. Las enzimas disuelven y abren poros en la membrana basal que rodea al vaso sanguíneo.

5. Las CE comienzan a dividirse (proliferación) y migran fuera del vaso hacia el estímulo, a través de los poros producidos en la membrana basal.

6. En este punto del proceso, moléculas especializadas llamadas moléculas de adhesión, sirven como puntos de contacto entre las células y entre las células y la matriz, que ayudan a mantener la organización en esa migración.

7. Las MMP se producen para disolver la matriz extracelular frente al vaso sanguíneo en crecimiento. Según se va alargando el vaso, la matriz que lo rodea se remodela.

8. Las CE se alargan y comienzan a adoptar la forma tubular de un vaso sanguíneo.

9. Los nuevos vasos individuales más cercanos se conectan para formar un lazo por el cual pueda circular la sangre.

10. Finalmente el nuevo vaso sanguíneo tubular formado, se estabiliza por la presencia de células musculares lisas y pericitos, que le proporcionan un soporte estructural. Entonces comienza el flujo sanguíneo [12].

Esta cascada de eventos se divide en una fase de activación y una fase de resolución. En la fase de activación, que abarca la iniciación y la progresión, ocurre la degradación de la membrana basal, la migración celular, la invasión de la matriz extracelular, la proliferación de las CE y la formación del lumen en los capilares. La fase de resolución comprende la terminación y la maduración de los vasos y es en esta fase donde ocurre la inhibición de la proliferación de las CE, el cese de la migración celular, la reconstitución de la membrana basal y la maduración de las uniones complejas del endotelio [11].

6. Ribatti D, Nico B, Cribellato E, Roccaro AM, Vacca A. The history of the angiogenic switch concept. *Leukemia* 2007;21(1):44-52.

7. Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285(21):1182-86.

8. Scagliotti GV, Selvaggi G. The place of targeted therapies in the management of non small cell bronchial carcinoma. Target therapies in lung cancer management. *Rev Mal Respir* 2006;23(5 pt 3):137-47.

9. Fischer I, Gagner JP, Law M, Newcomb EW, Zaqaq D. Angiogenesis in gliomas: biology and molecular pathophysiology. *Brain Pathol* 2005;15(4):297-310.

10. Emanuelli C. Angiogenesis gene therapy to rescue ischaemic tissue: achievement and future directions. *Br J Pharmacol* 2001;133(7):951-59.

11. Pepper MS. Role of MMP and PA/plasmina systems in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;17(4):605-19.

12. Walsh DA. Pathophysiological mechanisms of angiogenesis. *Adv Clin Chem* 2007;44:187-221.

Relación entre los diferentes mediadores angiogénicos

Como todo proceso biológico, la angiogénesis involucra numerosos aspectos y componentes celulares y moleculares. Tomando en cuenta todas las consideraciones anteriores, este proceso depende de un control en las funciones de las CE, entre las que se encuentran la proliferación, la migración y las interacciones con la matriz extracelular [13].

Usualmente la CE existe en la vasculatura como célula inactiva regulando el flujo de sustancias nutritivas, de diversas moléculas biológicamente activas y de las propias células sanguíneas. Este papel de *barrera de mantenimiento* del endotelio se efectúa a través de la presencia de receptores anclados a la membrana para numerosas moléculas, por ejemplo: los factores de crecimiento, metabolitos como el óxido nítrico y la serotonina; así como también a través de proteínas de unión específicas y moléculas que gobiernan las interacciones entre las células y entre estas y la matriz [14].

La activación de la CE puede regularse, positiva o negativamente, por varias moléculas, que incluyen factores de crecimiento y polipéptidos de la familia de las citocinas, los cuales se sintetizan en células normales o malignas [11]. Entre estas moléculas se encuentran los reguladores positivos de la angiogénesis que mejor han sido caracterizados: el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) [15] y el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF) [16]. El efecto de estos factores contrasta con el de otras citocinas, como por ejemplo: el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) [17] y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) [18]. Ambos son polipéptidos que actúan como factores pro-angiogénicos *in vivo*, sin embargo, no favorecen el crecimiento endotelial *in vitro*. Esto ha llevado a plantear la hipótesis de que estas citocinas inducen la angiogénesis indirectamente, a través de la inducción de reguladores positivos producidos por las células del estroma, las células inflamatorias atraídas químicamente [19] y las propias células tumorales. Se han descrito otras citocinas como reguladores de la angiogénesis *in vivo*, así es el caso de la interleuquina-1 (IL-1) [20], el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) [21], el factor de crecimiento epidérmico (EGF) [22] y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) [23], entre otras.

Muchas de las interacciones entre las CE y la matriz extracelular se favorecen por eventos proteolíticos extracelulares, los cuales dependen de un conjunto de proteasas y de inhibidores de estas, producidos por las CE activadas y otros tipos celulares; como células tumorales, macrófagos, etc. [24, 25]. Una de las proteasas más importantes son las MMP, las cuales juegan una función fundamental en la migración de las células (normales o malignas) a través del cuerpo [26]. Las MMP son miembros de una familia de al menos 16 endopeptidasas dependientes de Zn^{2+} , que funcionan extracelularmente y se expresan de forma latente [12, 25].

Estas enzimas se secretan hacia el espacio extracelular, por lo que existen de forma soluble, con la excepción de las MMP asociadas a membrana [27], que contienen un dominio transmembrana en el extremo

carboxiterminal y se localizan en la superficie celular [28]. Las MMP se expresan como zimógenos inactivos (el dominio regulador debe disociarse del dominio catalítico para que la enzima se active). Esta disociación puede llevarse a cabo por autocatálisis o por la acción de varias enzimas como la furina, la plasmina o cualquier otra MMP. Esta activación también puede ocurrir en la superficie de muchas células y es mediada por las MMP asociadas a membrana [29]. La degradación de la matriz extracelular por proteasas, requiere de una regulación estricta. De este modo existe una regulación a nivel transcripcional, en la cual median complejos transcripcionales específicos activados, que se unen a elementos regulatorios de los genes que codifican para estas enzimas proteolíticas; también se regula por el balance que existe entre las enzimas zimógenas y las catalíticamente activas y por último se regula por la unión de los zimógenos y de las enzimas catalíticamente activas a los inhibidores tisulares de metaloproteína (TIMPs, en inglés) [30, 31].

Una vez activadas, las MMP pueden ser inactivadas por los inhibidores mencionados y por la unión a proteínas plasmáticas como la microglobulina- $\alpha 2$. Se estableció que el balance total de expresión y activación de MMP contra el nivel de los TIMPs, está a favor de las primeras, o sea, prevalece la activación sobre la inhibición de las MMP [29].

Los procesos de invasión celular, proliferación y migración, no solo dependen de los sistemas enzimáticos, los factores de crecimiento y sus receptores, sino que también dependen de las moléculas de adhesión [33]. Estas se clasifican en 4 familias atendiendo a sus características estructurales y bioquímicas: la familia de las integrinas, la superfamilia de las inmunoglobulinas, las caderinas y las selectinas [33, 34].

Por ejemplo, durante la invasión y la migración, la interacción de las CE con la matriz extracelular está mediada por las integrinas. De igual modo, en la fase final del proceso angiogénico, que incluye la formación de los lazos entre capilares, juegan un papel fundamental en las interacciones célula-célula y célula-matriz [35].

Patologías asociadas a la angiogénesis

Existen las patologías asociadas a una baja actividad angiogénica, como el daño de los tejidos provocado por isquemia [36] o insuficiencia cardíaca [37]. Aunque generalmente lo más común es asociar este proceso de neovascularización a patologías relacionadas a una alta actividad angiogénica, como los procesos de inflamación crónica entre los que se encuentran, la artritis reumatoide [38] y el Síndrome de Crohn (inflamación crónica del intestino) [39], la retinopatía diabética [40], el hemangioma [41], la psoriasis [42-43], la endometriosis (proliferación endometrial de tejido fuera de la cavidad uterina) [44] y principalmente el cáncer (tanto tumores sólidos como hematológicos) [45], pero más recientemente ha sido demostrado también tener un mayor impacto en diversos desórdenes como la arteriosclerosis [46], obesidad, asma, enfermedades infecciosas, neurodegeneración e hipertensión [47].

La angiogénesis y el cáncer

Todos los tumores comienzan su existencia como pequeños agregados de células neoplásicas que crecen

13. Liao F, Li Y, O'Connor W, Zanetta L, Bassi R, Santiago A, et al. Monoclonal antibody to vascular endothelial-cadherin is a potent inhibitor of angiogenesis tumor growth and metastasis. *Cancer Res* 2000; 60(6):6805-10.

14. Ruegg C, Hasmim M, Lejeune FL, Alguisi GL. Antiangiogenic peptides and proteins: from experimental tools to clinical drugs. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1765(2):155-77.

15. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology* 2005; 69 Suppl 3:4-10.

16. Shing Y, Folkman J, Sullivan R, Butterfield C, Murray J, Klagsbrun M. Heparin affinity: purification of a tumor-derived capillary endothelial cell growth factor. *Science* 1984;223(4642):1296-9.

17. Tunyogi-Csapo M, Koreny T, Vermes C, Galante JO, Jacobs JJ, Glant TT. Role of fibroblasts and fibroblast-derived growth factor in periprosthetic angiogenesis. *J Orthop Res* 2007;25(10):1378-88.

18. Fugita S, Saika S, Kao WW, Fugita K, Miyamoto T, Ikeda K, et al. Endogenous TNF α suppression of neovascularization stroma in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(7):3051-5.

19. Izzi L, Attisana L. Ubiquitin-dependent regulation of TGF- β signaling in cancer. *Neoplasia* 2006;8(8):677-88.

20. Naldini A, Leali D, Pucci A, Morena E, Carraro F, Nico B, et al. Cutting edge: IL-1 beta mediates the proangiogenic activity of osteopontin-activated human monocytes. *J Immunol* 2006;177(7):4267-70.

21. Mikroulis D, Papanas N, Maltezos E, Bougioukas G. Angiogenic growth factors in the treatment of peripheral arterial disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2007;5(3):195-209.

22. Hoffmann S, Glaser S, Wunderlich A, Lingelbach S, Dietrich C, Burchert A, et al. Targeting the EGF/VEGF-R system by tyrosine-kinase inhibitors-a novel anti-proliferative/antiangiogenic strategy in thyroid cancer. *Langenbecks Arch Surg* 2006;391(6):589-96.

23. Magnusson PU, Looman C, Ahgren A, Wu Y, Claesson-Welsh L, Heuchel RL. Platelet-derived growth factor receptor beta constitutive activity promotes angiogenesis *in vivo* and *in vitro*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27(10):2142-9.

24. Borkakoti N. Matrix Metalloprotease inhibitors. *Biochem Soc Trans* 2004; 32(Pt 1):17-20.

25. Bogaczewicz J, Dudek W, Zubilewicz T, Wronski J. The role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in angiogenesis. *Pol Merkur Lekarski* 2006; 21(121):80-5.

26. Davis GE, Saunders WB. Molecular balance of capillary tube formation versus regression in wound repair: role of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2006;11(1):44-56.

27. Cauchard JH, Robinet A, Poitevin S, Bobichon H, Maziere JC, Bellon G, et al. UVA-mediated down-regulation of MMP-2 and MT1-MMP coincides with impaired angiogenic phenotype of human dermal endothelial cells. *Biochim Biophys Res Commun* 2006;345(2):681-7.

por encima de la membrana basal, sin ningún aporte específico de sangre. Estos agregados son por consiguientes avasculares [48]. Esta forma avascular de tumor se denomina *carcinoma in situ* y es altamente dependiente de los vasos sanguíneos presentes en las proximidades para el suministro de dióxigeno y nutrientes. Por otro lado, el tamaño del carcinoma se mantiene constante, es decir sin crecimiento notable en el tiempo y se limita por la relación existente entre la proliferación celular y la apoptosis o muerte programada [49].

Sin vasculatura el tumor no puede crecer más allá de 1-2 mm, pues la única vía por la que accede al oxígeno y los nutrientes es por difusión [50]. En los tejidos la difusión del oxígeno llega solo a una distancia de 100 μ m entre el capilar y las células, lo que equivale a un rango de 3 a 5 líneas de células alrededor del capilar [51].

Una vez que el tumor se conecta a la circulación mediante nuevos vasos sanguíneos, puede crecer y las células tumorales se pueden diseminar por el organismo dando lugar a las metástasis [52]. Es decir que la angiogénesis permite que el tumor tenga acceso al oxígeno y los nutrientes esenciales para su crecimiento y que se promueva la metástasis [53]. Esta demostración suscitó el concepto novedoso de percibir el antagonismo del proceso angiogénico como una estrategia prometedora en la terapia del cáncer. El momento que se recomienda para la aplicación de la terapia anti-angiogénica, es de manera que no impida completamente la afluencia de vasos sanguíneos al tumor y con ello la exposición a la quimioterapia; pero además de evitar una abundante irrigación y con ella la formación de metástasis, como se señala en la figura 2.

La principal fuerza que inicia el proceso de angiogénesis hacia el tumor es el daño hipóxico que resulta de la incrementada distancia entre las células tumorales y los capilares. La hipoxia induce la expresión de VEGF y su receptor, vía el factor inducible por hipoxia-1 α (HIF-1 α , en inglés) [51] y también es un factor atrayente de macrófagos [52-54]. Es decir que a medida que pasa el tiempo algunas de las células tumorales del *carcinoma in situ*, pueden llegar a adquirir la capacidad para expresar determinados genes que codifican factores naturales de crecimiento angiogénico. Por otro lado, algunas células pro inflamatorias (linfocitos y macrófagos principalmente) [55] atraídas por el propio tumor, también contribuyen a liberar factores de crecimiento [56].

La habilidad de los tumores para inducir y sostener el proceso angiogénico se atribuye a dos cambios funcionales fundamentales. El primero es un evento de pérdida de función, que implica la disminución o regulación negativa de proteínas inhibitorias endógenas tales como la trombospondina-1 (TSP-1) [57] e IFN- α [58]. El segundo, es un evento de ganancia de función en el cual se inducen los factores de crecimiento estimuladores de la angiogénesis. De estos factores de crecimiento, es precisamente en el VEGF en que se han centrado la mayoría de los esfuerzos dedicados a la supresión de la angiogénesis tumoral, ya que se sobre expresa en la mayoría de los tumores ligado a un cambio de fenotipo angiogénico [59-62].

Los vasos sanguíneos *de novo* no son exactamente iguales a los normales, presentes en los tejidos sanos.

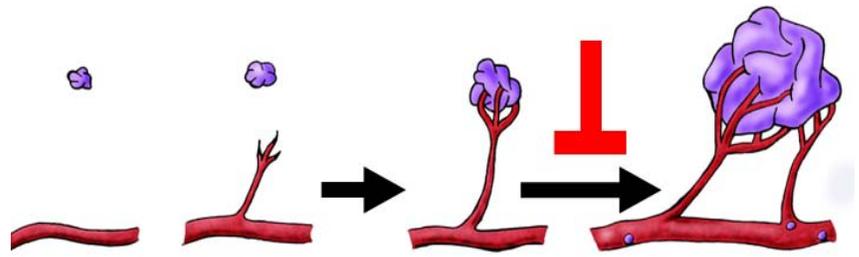


Figura 2. Momento conveniente para la terapia anti-angiogénica. El proceso de neovascularización tumoral, involucra la liberación de factores proangiogénicos (por ejemplo, VEGF) por las células tumorales, causando la activación endotelial, el crecimiento de vasos sanguíneos, y la posterior expansión del tumor.

En el caso de los vasos tumorales, estos presentan un diámetro interior desproporcionadamente grande con relación al grosor de la pared vascular, así como una menor cantidad de células musculares lisas y de pericitos. Esto implica una notable delgadez y fragilidad de la pared vascular, que favorece el desarrollo de dilataciones de tipo aneurismas, un flujo sanguíneo irregular, con zonas donde se aprecia la ausencia de irrigación sanguínea y una elevada permeabilidad vascular [63].

Además los vasos sanguíneos tumorales expresan marcadores específicos, por ejemplo endoglinas (CD-105/EDG) que es un componente homodimérico de la superficie celular y actúa como receptor del TGF- α . Este complejo tiene una expresión abundante en el endotelio tumoral pero no en los vasos sanguíneos normales [44].

Las CE de los vasos sanguíneos inmaduros necesitan señales de crecimiento para su supervivencia. Sin estas señales sufren una muerte celular programada o apoptosis. El VEGF evita la apoptosis de las CE en los vasos sanguíneos inmaduros, característicos de los tumores, mediante la inducción de la expresión de proteínas anti-apoptóticas Bcl-2, A1, XIAP y survivina [64].

En los tumores los niveles elevados de VEGF producen una vasculatura excesivamente permeable y con fugas, dando lugar a una elevada presión intersticial dentro del tumor. La morfología de los vasos tumorales también hace que el flujo sanguíneo y el suministro de oxígeno y nutrientes sea desigual. Esto tiene repercusión en la terapia antitumoral convencional, pues la distribución de los agentes quimioterápicos dentro del tumor puede ser desigual, quedando algunas zonas inaccesibles a estos agentes y con ello se evita la destrucción total de las células neoplásicas. También los niveles de dióxigeno varían dentro del tumor, donde existen zonas de hipoxia relativa, insensibles a la radioterapia [65, 66]. Entonces el empleo de agentes anti-VEGF podría ser un aliado ideal de la quimioterapia y la radioterapia, pues evita el crecimiento del tumor, mientras que el mejoramiento del suministro del tratamiento, potencia la destrucción del tumor [67-69].

Frecuentemente cuando se elimina un tumor primario, al poco tiempo suelen emerger tumores secundarios, siempre y cuando haya transcurrido el tiempo suficiente para el desarrollo de metástasis. En tal sentido, cuando se elimina el tumor primario, también se elimina la fuente esencial de angiostatina (anti-angiogénico endógeno natural), lo que favorece el desarrollo de tumores secundarios [63]. La explicación de ello radica en que la angiostatina se produce de manera

28. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinase, angiogenesis and cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9(2):551-4.

29. Oku N, Matsukawa M, Yamakawa S, Asai T, Yahara S, Hashimoto F, et al. Inhibitory effect of green tea polyphenols on membranetype 1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP. *Biol Pharm Bull* 2003; 26(9):1235-8.

30. Bogusiewicz M, Strycka-Zimmer M, Rechberger T. Activity of matrix metalloproteinases -2 and -9 (MMP-2 and MMP-9) and content of their tissue inhibitors in endometrial cancer-a preliminary study. *Ginecol Pol* 2007;78(5):366-72.

31. Hrabec E. A novel matrix metalloproteinase inhibitor in patients with advanced cancer of the ovary. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128(8):197-204.

32. Dano K, Behrendt N, Hoyer-Hansen G, Johnsen M, Lund LR, Ploug M, et al. Plasminogen activation and cancer. *Thromb Haemost* 2005;93(4):676-81.

33. Dunehee AL, Anderson M, Majumdar S, Kobayashi N, Berkland C, Siahaan TJ. Cell adhesion molecules for targeted drug delivery. *J Pharm Sci* 2006;95(9):1856-72.

34. Liebner S, Caballero U, Dejana E. The multiple languages of endothelial cell-to-cell communication. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26(7):1431-8.

35. Humphries MJ. Adhesion Molecules as important angiogenesis components. *Trends Pharmacol Sci* 2000;21(1):29.

36. Arenillas JF, Sobrino T, Castillo J, Dávalos A. The role of angiogenesis in damage and recovery from ischemic stroke. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2007; 9(3):205-12.

37. Miura S, Saku K. Regulation of angiogenesis and angiogenic factors by cardiovascular medications. *Curr Pharm Des* 2007;13(20):2113-7.

38. Koch AE, Distler O. Vasculopathy and disordered angiogenesis in selected rheumatic diseases: rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2007;9 Suppl 2:S3.

39. Koutroubakis IE, Xidakis C, Karmiris K, Sfiridaki A, Kandidaki E, Kouroumalis EA. Potential role of soluble angiopoietin-2 and Tie-2 in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Clin Invest* 2006; 36(2):127-32.

40. Hernández C, Simo R. Strategies for blocking angiogenesis in diabetic retinopathy: from basic science to clinical practice. *Expert Opin Investig Drugs* 2007;16(8):1209-26.

natural por los tumores sólidos o por células próximas a ellos, pero no parece detener el crecimiento del tumor primario. Así mientras este se está desarrollando, también continúa la producción de angiostatina y ello permite que el crecimiento de otros tumores distantes se encuentre endógenamente regulado [44].

Los tumores producen mayor cantidad de factores estimulantes que inhibidores de la angiogénesis. La respuesta está aparentemente en el hecho de que los factores estimulantes tienen una vida media breve en el torrente sanguíneo (menos de 5 min), en tanto que la angiostatina y otros inhibidores circulan durante más tiempo (hasta 5 días). Por ello, los factores estimulantes solo actúan en las proximidades del tumor, mientras que los inhibidores llegan fácilmente a los tumores distantes [50].

La mayoría de las células neoplásicas presentan una gran inestabilidad genética, con la aparición de frecuentes mutaciones que llevan a la ocurrencia de cambios celulares que se traducen en una resistencia a la acción citotóxica de los fármacos antineoplásicos convencionales [70]. Para abordar un poco más acerca de la genética tumoral, podemos citar la acción de varios oncogenes, tales como: *V-ras*, *K-ras*, *V-raf*, *fos* y *E6* del virus del papiloma humano 16, los cuales promueven la angiogénesis mediante la estimulación de la producción de factores de crecimiento, citocinas y enzimas proteolíticas [71-72]. Al contrario, existen genes supresores de tumores como el *Rb*, el *c-jun* y el *p53*. Este último, causa la degradación de HIF-1 α , inhibición de la producción de VEGF y estimulación del inhibidor TSP-1 [54].

Las CE son homogéneas, diploides y genéticamente estables [49]. Se producen mutaciones espontáneas muy rara vez en ellas [73]. Por consiguiente, las acciones terapéuticas enfocadas hacia este tipo de células como diana farmacológica se enfrentarían con menos problemas de procesos de resistencia, aspecto este característico de varios antitumorales [50].

Angiogénesis tumoral como blanco terapéutico

Las investigaciones en el campo de la angiogénesis tumoral están dirigidas a tres direcciones fundamentales: 1) la identificación de los reguladores positivos y negativos, 2) la caracterización de sus mecanismos de acción, la identificación de inhibidores tanto naturales como sintéticos y 3) la cuantificación de la neovascularización en biopsias de tumores para su uso en el diagnóstico como herramienta predictiva [74].

Folkman y col. fueron los primeros en identificar y aislar inhibidores de la angiogénesis, desarrollándose en su laboratorio más de una docena de tales inhibidores. Su trabajo también estimuló la acción de otros laboratorios en el mundo a desarrollar otros inhibidores de la angiogénesis, actividad la cual sigue extendiéndose a través de la comunidad científica-académica y farmacéutica. Varios de estos inhibidores son hoy en día usados en el tratamiento del cáncer.

A partir de los resultados de los ensayos clínicos en curso (Tabla 1), la terapia anti-angiogénica parece ser una estrategia prometedora para el tratamiento del cáncer. Dichos ensayos clínicos permiten identificar numerosos compuestos con actividad anti-angiogénica; siendo los inhibidores del VEGF y de sus receptores

Tabla 1. Compuestos anti-angiogénicos en desarrollo clínico para cáncer

Fármaco registrado (marca comercial) [farma]	Acción	Estudio clínico	Tipo de cáncer
Bevacizumab (Avastin® [Genentech])	Inhibe VEGFA	Fase III en combinación con quimioterapia	Colorectal metastático, de pulmón de células no pequeñas, renal, ovario y de mama metastático
SU11248 (Sutent® [Pfizer])	Inhibe VEGFRs, PDGFR, KIT y FLT3	Fase III monoterapia	Carcinoma renal
Bay 43-9006 (Nexavar® [Bayer])	Inhibe VEGFRs, PDGFR, Raf	Fase III monoterapia	Carcinoma renal
AG-013736 (Axitinib [Pfizer])	Inhibe la porción tiro sintasa quinasa del VEGFR y PDGFR-B	Fase III monoterapia	Carcinoma renal metastático
PTK787/ZK-222584 (vatalanib [Novartis])	Inhibe la porción tiro sintasa quinasa del VEGFR1-3, PDGFR, KIT	Fase III	Carcinoma renal y gastrointestinal
VEGF-trap (Aflibercept® [Sanofi-Aventis y Regeneron Pharmaceuticals, Inc])	VEGFA, VEGFB y PIGF	Fase III en combinación con quimioterapia	Próstata, colorectal, páncreas, gástrico y de células no pequeñas de pulmón

los más avanzados [75, 76]. Recientemente el Bevacizumab (Avastin) un anticuerpo contra el VEGF-A fue aprobado por la FDA, como el primer fármaco anti-angiogénico sistémico [77].

Por citar otros inhibidores de la angiogénesis, se estudian por ejemplo el cartílago de tiburón [78] aunque recientemente acaba de fracasar en fase III del estudio clínico; diversos flavonoides como la genisteína, derivado de la soya que es capaz de inhibir la expresión de MMP-2 en células de cáncer de próstata [79]. Por otra parte, se demostró que la apigenina, otro flavonoide natural, presenta efectos antiangiogénicos que involucran la vía del óxido nítrico [80]. Además estudios recientes han mostrado que el galato de 3-epigallocatequina, flavonoide principal del té verde (*Camellia sinense*) [81], presenta propiedades antitumorales y antiangiogénicas [82-84]. En tal sentido, uno de los efectos moleculares de este compuesto es estimular la expresión de los inhibidores endógenos de MMP (TIMP-1 y TIMP-2) [85].

Otra modalidad con posibilidades reales de éxito, es el empleo de la tecnología del ADN del VEGF-A como inmunoterapia activa anti-angiogénica [86].

Recientemente se han solicitado un gran número de patentes de productos relacionados con el tratamiento anti-angiogénico como antitumorales, por ejemplo: el VEGFR truncado para inhibir la expresión del VEGF y se utiliza para la terapia génica del cáncer de colon y pulmón; una secuencia de nucleótidos que codifica para un receptor soluble que inhibe múltiples factores de crecimiento angiogénico, produciendo una completa inhibición de la angiogénesis en el tratamiento del cáncer; o un inhibidor de la angiogénesis, astaxanthin, o sus ésteres, como ingrediente activo útil para el tratamiento del cáncer y otros desórdenes relacionados con la angiogénesis, etc [87].

Kerbel y col. estudian otros tipos de fármacos de modulación vascular, llamados *agentes de disrupción vascular*. Su acción consiste en una oclusión aguda de las vasculaturas tumorales, que origina una gran zona central de necrosis en el tumor, pero también aumenta la movilización de los precursores endoteliales circulantes derivados de la médula espinal. Esta movilización provoca un rápido redesarrollo del tumor después del tratamiento, que se aprecia como un borde ancho

41. Hasan Q, Tan ST, Gush J, Peters SG, Davis PF. Steroid therapy of a proliferating hemangioma: histochemical and molecular changes. *Pediatrics* 2000;105(1):117-20.

42. Man XY, Zheng M. Advances in pathogenesis of psoriasis. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2006;35(6):673-7.

43. Nisolle M, Alvarez ML, Colombo M, Foidart JM. Pathogenesis of endometriosis. *Gynecol Obstet Fertil* 2007;35(9):898-903.

44. Balakin KV, Tkachenko SE. VEGF/VEGFR signalling as a target for inhibiting Angiogenesis. *Expert Opin Investig Drugs* 2007;16(1):83-107.

45. Klement H, St Croix B, Milsom C, May L, Guo Q, Yu JL, et al. Atherosclerosis and vascular aging as modifiers of tumor progression, angiogenesis, and responsiveness to therapy. *Am J Pathol* 2007;171(4):1342-51.

46. Tapping a research-rich vein [Editorial]. *Nat Med* 2003;9(6):627.

47. Chaplain MA, McDougall SR, Anderson AR. Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis. *Annu Rev Biomed Eng* 2006;8:233-57.

48. Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SL, Woerner BM, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res* 2000;60(5):1306-11.

49. López O, Bequet M, Hernández P, Araña M de J, Perea SE, López P. Actividad angiogénica en el carcinoma cervical asociado a virus de papiloma humano: oncogenes virales como blanco terapéutico. *Biotecnol Apl* 2001;18(2):95-6.

50. Kyzas PA, Stefanou D, Batistatou A, Agnantis NJ. Hypoxia-induced tumor angiogenic pathway in head and neck cancer: an *in vivo* study. *Cancer Lett* 2005;225(2):297-304.

51. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res* 2006;66(2):605-12.

52. Dome B, Hendrix MJ, Paku S, Tovari J, Timar J. Alternative vascularization mechanism in cancer: pathology and therapeutic implications. *Am J Pathol* 2007;170(1):1-15.

de células viables en la superficie del tumor. Resultados anteriores muestran que la terapia anti-angiogénica inhibe la movilización y los niveles de precursores endoteliales circulantes, por lo tanto ellos demostraron que con pre-tratamiento anti-angiogénico se aumenta la eficacia de la terapia con agentes de disrupción vascular, al observarse menor grosor de células viables [42].

La próxima generación de drogas anti-angiogénicas tendrá como objetivo mejorar la eficacia clínica teniendo como blanco terapéutico múltiples factores angiogénicos. Este enfoque fue validado por recientes estudios con fármacos oncológicos conocidos como inhibidores tirosina kinasa de múltiples dianas, que actúan simultáneamente sobre varios de los receptores de factores de crecimiento como: los de la familia de receptores del VEGF 1 al 3, el receptor del PDGFR, el receptor del bFGF y el receptor del factor de crecimiento epidérmico. Las propiedades distintivas farmacocinéticas y farmacodinámicas de estos compuestos ayudan a explicar las observaciones clínicas, las cuales entran en fases avanzadas (II y III) de desarrollo clínico [88, 89].

Conclusiones

Existen evidencias convincentes acerca de los beneficios terapéuticos que sobrevienen de la inhibición de la angiogénesis por diversos mecanismos moleculares. Esta revisión pretende dar una visión general de los principales conocimientos acumulados acerca de

la angiogénesis y su papel en el cáncer, incluyendo también los componentes de las vías de transducción de señales que se han investigado de este proceso. La concepción en este siglo con respecto al tratamiento del cáncer, en la cual se considera que la inhibición del proceso angiogénico es una vía importante para detener la progresión de esta enfermedad, representa una alternativa terapéutica substancial ante el problema de la resistencia adquirida a fármacos que actúan directamente contra la célula tumoral. La terapia anti-angiogénica es ahora una estrategia terapéutica adicional a la cirugía, la quimioterapia y la radioterapia, y los recientes ensayos de anticuerpos contra el VEGF como terapia adyuvante ha demostrado beneficios clínicos significativos en el cáncer humano.

La introducción de agentes o moléculas antiangiogénicas en el arsenal contra el cáncer, ha cambiado la historia natural de muchos tipos de cáncer humano. Las drogas o medicamentos antiangiogénicos nos ofrecen una gran oportunidad para evaluar no solo una nueva clase de agente antitumoral, sino también un nuevo y relevante mecanismo de acción. Si bien la mayoría de los productos que tienen éxito en la inhibición de la angiogénesis son de origen biotecnológico, la búsqueda de nuevos productos provenientes de fuentes naturales constituye un reto importante de la Farmacología actual. Muchos de estos y otros descubrimientos sugieren estrategias para mejorar los beneficios clínicos de la terapia anti-angiogénica.

53. van den Beucken T, Koritzinski M, Wouters BG. Translational control of gene expression during hypoxia. *Cancer Biol Ther* 2006;5(7):749-55.
54. Murdoch C, Lewis CE. Macrophage migration and gene expression in response to tumor hypoxia. *Int J Cancer* 2005;117(5):701-8.
55. Brahimi-Horn C, Pouyssegur J. The role of hypoxia inducible factor in tumor metabolism growth and invasion. *Bull Cancer* 2006;93(8):E73-80.
56. Kang JH, Kim SA, Chang SY, Hong S, Hong KJ. Inhibition of trichostatin A-induced anti-angiogenesis by small-interfering RNA for thrombospondin-1. *Exp Mol Med* 2007;39(3):402-11.
57. Yanase N, Kanetaka Y, Mizuguchi J. Interferon-alpha-induced apoptosis via tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-dependent and -independent manner. *Oncol Rep* 2007;18(4):1031-8.
58. Lieto E, Ferraraccio F, Orditura M, Castellano P, Mura AL, Pinto M, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2008;15(1):69-79.
59. Kopczyńska E, Dancewicz M, Kowalewski J, Kardymowicz H, Tyrakowski T. The estimation of serum concentration of vascular endothelial growth factor in patients with non-small cell lung cancer. *Pol Merkuriusz Lekarski* 2007;22(132):536-8.
60. Timar J, Paku S, Tovari J, Dome B. Rationale of antiangiogenic therapy. *Magy Onkol* 2006;50(2):141-51.
61. Dallas NA, Fan F, Gray MJ, Van Buren G, Lim SJ, Xia L, et al. Functional significance of vascular endothelial growth factor receptors on gastrointestinal cancer cells. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26(3-4):433-41.
62. Karter SK. Clinical strategy for the development of angiogenesis. *Oncologist* 2000;23(9):51-3.
63. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. *Recent Prog Horm Res* 2000;55:15-35.
64. Griffioen AW. Cancer is angiogenesis dependent. *Blood* 2000;95(8):3023-34.
65. Lee H. Molecular and cellular aspects of tumor cell invasion. *Nat Med* 2000;5(1):167-70.
66. Zhong H, Bowen JP. Antiangiogenesis drug design: multiple pathways targeting tumor vasculature. *Curr Med Chem* 2006;13(8):849-62.
67. Hurwitz KG. Understanding cancer. *Cancer Res* 2004;16(6):38-50.
68. Jain DC. Tumor angiogenesis: vascular growth in solid tumors. *Ann Oncol* 2001;5(2):329-36.
69. Ching TT. The COX-2 inhibitors in human cancer. *J Biol Chem* 2000;275(8):11397-403.
70. Kerbel R. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis* 2000;21(1):505-15.
71. López-Ocejo O, Vilorio-Petit A, Bequet-Romero M, Mukhopadhyay D, Rak J, Kerbel RS. Oncogenes and tumor angiogenesis: the HPV-16 E6 oncoprotein activates the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene promoter in p53 independent manner. *Oncogenes* 2000;19:4611-20.
72. Quesada AR, Chapuli RM, Medina MA. Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials. *Med Res Rev* 2006;26(4):483-530.
73. Ferrara N, Kerbel R. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* 2005;438:967-74.
74. Zhong H, Bowen JP. Molecular design and clinical development of VEGFR kinase inhibitors. *Curr Top Med Chem* 2007;7(14):1379-93.
75. Shojaei F, Ferrara N. Antiangiogenesis to treat cancer and intraocular neovascular disorders. *Lab Invest* 2007;87(3):227-30.
76. Grossi F, Aita M. Bevacizumab and non-small-cell lung cancer: starving the enemy to survive. *Expert Opin Biol Ther* 2007;7(7):1107-19.
77. Hassan ZM, Feyzi R, Sheikhan A, Bargahi A, Mostafaei A, Mansouri K, et al. Low molecular weight fraction of shark cartilage can modulate immune responses and abolish angiogenesis. *Int Immunopharmacol* 2005;5(6):961-70.
78. Kumi-Diaka JK, Hassanhi M, Merchant K, Horman V. Influence of genistein isoflavone on matrix metalloproteinase-2 expression in prostate cancer cells. *J Med Food* 2006;9(4):491-7.
79. Erdogan A, Most AK, Wienecke B, Fehsecke A, Leckband C, Voss R, et al. Apigenin-induced nitric oxide production involves calcium-activated potassium channels and is responsible for antiangiogenic effects. *J Thromb Haemost* 2007;5(8):1774-81.
80. Katiyar S, Elmets CA, Katiyar SK. Green tea and skin cancer: photoimmunology, angiogenesis and DNA repair. *J Nutr Biochem* 2007;18(5):287-96.
81. Zhang Q, Tang X, Lu Q, Zhang Z, Rao J, Le AD. Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibit hypoxia- and serum-induced HIF-1alpha protein accumulation and VEGF expression in human cervical carcinoma and hepatoma cells. *Mol Cancer Ther* 2006;5(5):1227-38.

82. Carlson JR, Bauer BA, Vincent A, Limburg PJ, Wilson T. Reading the tea leaves: anti-carcinogenic properties of (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Mayo Clin Proc* 2007;82(6): 725-32.
83. Kerbel RS. Antiangiogenic therapy: a universal chemosensitization strategy for cancer? *Science* 2006;312(5777):1171-5.
84. Garbosa S. Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-3-gallate. *Cancer* 2001;4(2): 822-32.
85. Bequet-Romero M, Ayala M, Acevedo BE, Rodríguez EG, López Ocejó O, Torrens I, *et al.* Prophylactic naked DNA vaccination with the human vascular endothelial growth factor induces an anti-tumor response in C57BL/6 mice. *Angiogenesis* 2007;10:23-34.
86. Harrison Ch. Patent watch. *Nat Rev Drugs Disc* 2007;6:262-3.
87. Shaked Y, Ciarcocchi A, Franco M, Lee CHR, Man S, Cheung AM, *et al.* Therapy-induced acute recruitment of circulating endothelial progenitor cells to tumors. *Science* 2006;313: 1785-7.
88. Hilberg F, Roth GJ, Krssak M, Kautschitsch S, Sommergruber W, Tontsch-Grunt U, *et al.* BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer Res* 2008;68(12): 4774-82.
89. Spannuth WA, Sood A, Coleman RL. Angiogenesis as a strategic target for ovarian cancer therapy. *Nat Clin Pract Oncol* 2008;5 (4):194-204.

Recibido en diciembre, 2007. Aceptado para publicar en octubre, 2008.